

Г.Г. Воронов, Ю.Б. Белоусов,
С.Я. Соколов

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЛИПОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ ФЛАКОЗИДА, ТАНАЦЕХОЛА И ПРОБУКОЛА НА МОДЕЛИ ТРАНЗИТОРНОЙ РАДИАЦИОННОЙ ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИИ

Витебский государственный
медицинский университет
Российский государственный
медицинский университет
Всероссийский институт лекарственных
и пряно-ароматических растений

На модели радиационной дислиппротеинемии изучена сравнительная липотропная активность флакозида, танацехола и пробукола. Как показали исследования, наиболее активным антиоксидантом и корректором изменений в состоянии ЛТС и системы эстерификации ХС в кровеносном русле экспериментальных животных, характерных для транзитной радиационной ДЛП, оказался флакозид. Наиболее ценными эффектами флакозида являются: способность увеличивать плазменный уровень ХС ЛПВП, снижать содержание ХС в ЛПНП, частично нормализовать активность ЛХАТ-реакции и оказывать антиоксидантное действие. Препараты растительного происхождения можно рассматривать в качестве перспективных средств для фармакологической коррекции атерогенных ДЛП вторичного происхождения.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема поиска новых эффективных и безопасных способов фармакологической коррекции нарушений функции липидтранспортной системы (ЛТС) крови по-прежнему остается актуальной. Особое значение при этом уделяется нарушениям вторичного происхождения, возникающим на фоне ряда заболеваний. Чаще всего они возникают при патологии печени (холестатический гепатит), почек (нефроз), щитовидной железы (гипотиреоз), у лиц, стра-

дающих хроническим алкоголизмом, а также под влиянием радиозэкологических факторов. Реальность существования данных проблем, которые в медицинской литературе обозначаются как вторичные дислиппротеинемии (ДЛП), зарегистрирована в многочисленных экспериментальных и клинических наблюдениях [7, 11]. Значительный интерес в качестве потенциальных фармакологических корректоров этих ДЛП представляют природные препараты. Некоторые из них (например, эссенциальные фосфолипиды, экстракт из гриба *Coriolus hirsutus* (кориолин), экстракт из дрожжей *Rhodotulura glutinis* (липоглутин), экстракт флавоноидов из цветков люпина флавоноидный препарат из цветков люпина) обладают, как показали исследования [4, 5, 6, 12], рядом липотропных эффектов (гиполипидемическое и антиоксидантное действие), что позволяет, используя полученные данные, вести целенаправленную разработку новых подходов для коррекции вторичных ДЛП.

Целью настоящей работы явилось изучение липотропных эффектов природных препаратов, изготовленных на основе рутеноидного гликозида из амурского бархата и бархата Лавали (флакозид) и экстракта пажиты (танацехол) в сравнении с пробуколом (синтетическое гиполипидемическое средство) на модели транзитной радиационной ДЛП, принятой в Институте радиобиологии НАНБ и на кафедре биохимии Витебского государственного медицинского университета в качестве экспериментальной модели для изучения гиполипидемической и антиоксидантной активности различных фармакологических средств.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Флакозид (феллавин) по химической структуре (8-(3-метилбут-2-енил)-5,4-диокси-7-о-β-глюкопиранозилфлавонол) близок к силимарину, представляет собой индивидуальный флавоноидный гликозид, получаемый из листьев бархата амурского и бархата Лавали (*Philodendron amurense* et *Laval Pupr.*) семейства рутовых. Танацехол

(танафлон) является очищенным сухим экстрактом из цветков пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.) семейства астровых сложноцветных, содержащим флавоноиды и фенилкарбоновые кислоты. Пробукол (фенбутол) по химической структуре является производным бутилфенола. Препараты для исследований были предоставлены лабораторией фармакологии (заведующий – профессор Соколов С.Я.) Всероссийского института лекарственных и пряно-ароматических растений (ВИЛАР, Российская Федерация) и кафедрой клинической фармакологии Российского государственного медицинского университета (заведующий – член-корр. РАМН, профессор Белоусов Ю.Б.).

Эксперименты поставлены на белых беспородных крысах-самцах со средней массой 180-200 г, находившихся на стандартном рационе вивария. Препараты использовались в виде взвешиваемой эмульсии в 1%-ном водном растворе желатины и вводились в желудок зондом один раз в сутки в течение 7 дней в периоде развития у животных радиационной транзиторной ДЛП (10-17 сутки после облучения). Дозы препаратов составляли: флакозид – 100 мг/кг, танацехол – 50 мг/кг и пробукол – 200 мг/кг массы. Однократное внешнее гамма-облучение крыс производили на гамма-установке УГУ-420 (СССР) с мощностью дозы $2,7 \cdot 10^4$ Гр/с и фокусном расстоянии 3 метра в дозе 1,0 Гр (Грэй). Всего было 5 групп животных: интактные крысы и крысы облученные в дозе 1,0 Гр, которым препарат не вводился, и три группы облученных крыс, которым производилось введение исследуемых препаратов в вышеуказанных дозах (количество животных в группах представлено в таблицах). Через 24 часа после последнего (седьмого) введения препаратов животных забивали декапитацией и в сыворотке крови, полученной из сосудов шеи, определяли основные показатели ЛТС: общие триглицериды (ммоль/л) с помощью наборов фирмы «Лахема», содержание общего холестерина (ммоль/л) по Абелю, а также холестерин ЛПВП, ЛПОНП и ЛПНП (все в ммоль/л) по методам, рекомендованным НИИ профилакти-

ческой медицины АМН Российской Федерации [2]. Индекс атерогенности рассчитывали по А.Н.Климову: (общий холестерин – холестерин ЛПВП): холестерин ЛПВП. Содержание белков в основных классах липопротеинов оценивали спектрофотометрически, а содержание липидов – с помощью наборов фирмы «Лахема» [10]. Оба показателя выражали в г/л. Для выделения эфиров холестерина использовали осаждение свободного холестерина дигитонином [3]. Содержание свободного холестерина (СХС) определяли ферментативным методом с помощью наборов Фирмы Вако (Япония). Определение скорости эстерификации свободного холестерина в сыворотке крови, катализируемой лецитин-холестерол-ацетилтрансферазой (ЛХАТ), проводили по методам Stokke, Norum [14] и Dobiasova [13]. Содержание диеновых конъюгатов (мкмоль/мг липидов), ТБК-положительных веществ или малонового диальдегида (мкмоль/л, мкмоль/мг липидов) определяли по методам В.Б.Гаврилова и соавт. и Л.И.Андреевой и соавт. [8, 1]. Антиокислительную активность сыворотки крови (%) оценивали по степени накопления малонового диальдегида в суспензии желточных липопротеинов (СЖЛ) [9]. Статистическая обработка результатов производилась после анализа вариационных рядов на нормальность распределения с использованием критерия Стьюдента на персональном компьютере IBM (статграф). В таблицах приводятся величины: среднее значение + сигма.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные опыты показали, что 7-дневное применение исследуемых препаратов в период развития транзиторной радиационной ДЛП (10-17 сутки после гамма-облучения), оказало определенное влияние на функциональное состояние ЛТС, системы эстерификации холестерина (ХС) крови и на показатели, характеризующие ее антиокислительный потенциал (см. таблицы 1-4).

Флакозид. Под влиянием данного препарата наблюдалось значительное (в 2 раза) возрастание содержания ХС ЛПВП (уровень данного показателя был даже выше значений интактных животных). К сожалению, при этом отмечалось увеличение уровня ХС в ЛПОНП и ОТГ (также примерно в 2 раза). Однако, наряду с этим имело место снижение содержания ХС ЛПНП (на 78%) и нормализация индекса атерогенности (ИА).

В крови животных, получавших флакозид, наблюдалась нормализация содержания белков в ЛПВП и значения белково-липидного коэффициента (БЛК) этой фракции липопротеинов. Во фракции апо-В-содержащих липопротеинов отмечено снижение уровня белков и величины БЛК.

Под влиянием флакозида наблюдалось снижение (до уровня интактных крыс) содержания СХС и нормализация фракционной и молярной активности ЛХАТ. При этом фракционная активность ЛХАТ под влиянием флакозида возрастала, но не достигала контрольных значений, а молярная – возрастала до уровня нормы.

Интересны изменения в содержании первичных (диеновые конъюгаты - ДК) и вторичных (малоновый диальдегид - МДА) продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также уровня антиокислительной активности (АОА) сыворотки крови на фоне действия флакозида: здесь отчетливо наблюдалась способность препарата оказывать антиоксидантный эффект в отношении первичных и вторичных продуктов ПОЛ, что сопровождалось значительным увеличением антиокислительного потенциала крови животных.

Танацехол. Результаты проведенных опытов свидетельствуют о том, что данный препарат не оказывал влияния на содержание ОХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПОНП, ХС ЛПНП, ОТГ и на величину ИА. Величины данных показателей оставались примерно такими же, как и у облученных животных, на данный период после радиационного воздействия (17 сутки).

Под влиянием танацехола отмечены и изменения в составе основных классов липопротеинов. Так, препарат способствовал увеличению (тенденция) уровня белков (в 1,62 раза), снижению – липидов (на 82,6%) и значительному возрастанию БЛК в этой же фракции липопротеинов.

Под влиянием 7-суточного применения танацехола были отмечены и изменения показателей системы эстерификации ХС крови: тенденция к снижению уровня СХС, в сравнении с облученными крысами, а также значительное (в 5 раз) возрастание фракционной и молярной активности ЛХАТ.

Результаты влияния танацехола на показатели ПОЛ и АОА сыворотки крови лучше интерпретировать в сравнении с таковыми у флакозида. Применение танацехола привело к снижению уровня ДК и, наоборот, к повышению содержания МДА, а накопление МДА в СЖЛ на этом фоне было менее активным.

Пробукол. По влиянию на содержание липидов в сыворотке крови и величину ИА пробукол ни чем не отличался от танацехола.

Изменения в составе основных классов липопротеинов под влиянием пробукола заключались в следующем: препарат приводил к увеличению содержания белков и снижению уровня липидов в ЛПВП (БЛК возрастал в 4 раза и был выше значений нормы (интактные крысы) в 3 раза). В этих условиях значительно возросло содержание липидов в апо-В-фракции липопротеинов, что привело к снижению значения БЛК более чем в 2 раза.

Весьма интересны результаты, отражающие изменение показателей системы эстерификации ХС в сыворотке крови под влиянием пробукола после облучения: препарат приводил к нормализации уровня СХС, однако значительно усугублял активность ЛХАТ (даже в сравнении с интактными животными).

Изменения показателей ПОЛ и АОА сыворотки крови под влиянием пробукола заключались лишь в небольшом (в сравнении с другими препаратами

ми), но достоверном снижении процента накопления МДА в СЖЛ.

Т.о., изучение липотропных свойств флакозида, танацехола и пробукола, проведенное на модели транзитрной радиационной ДЛП в экспериментальных условиях на животных, показало следующее.

Наиболее активным фармакологическим корректором по отношению к изменениям в содержании липидов сыворотки крови, характерным для транзитрной радиационной ДЛП, явился флакозид (увеличение уровня ХС ЛПВП, снижение содержания ХС ЛПНП и величины ИА), за исключением его нежелательного влияния на содержание ХС ЛПОНП и ОТГ. Остальные препараты были инертны в отношении указанных показателей.

Флакозид также более благоприятно влиял и на белково-липидный состав основных классов липопротеинов: в основном наблюдалось нормализующее влияние на указанные показатели (характерное для интактных животных).

Все препараты приводили к нормализации уровня СХС, однако на активность ЛХАТ они влияли не однозначно. Наиболее благоприятное (нормализующее) влияние на активность ЛХАТ оказал флакозид, хотя на уровень ее фракционной активности он оказал недостаточное активизирующее влияние. Танацехол, напротив, оказался сильным стимулятором активности данного фермента в этих условиях: молярная активность ЛХАТ при этом превысила уровень интактных животных почти в 2 раза. Пробукол же выступил в роли ингибитора холестерин-эстерифицирующей системы крови.

И, наконец, флакозид, в сравнении с танацехолом и пробуколом, проявил в достаточной степени выраженные свойства как антиоксиданта.

ВЫВОДЫ

1). Липотропные эффекты препаратов природного происхождения (флакозид, танацехол) в сравнении с таковы-

ми у пробукола являются более благоприятными.

2). Из исследованных препаратов, наиболее активным антиоксидантом и корректором изменений в состоянии ЛТС и системы эстерификации ХС в кровеносном русле экспериментальных животных, характерным для транзитрной радиационной ДЛП, оказался флакозид.

3). Наиболее ценными эффектами флакозида следует считать его способность увеличивать плазменный уровень ХС ЛПВП, снижать содержание ХС ЛПНП, частично нормализовывать активность ЛХАТ-реакции и антиоксидантная активность.

4). Флакозид, а также и танацехол, можно рассматривать в качестве перспективных средств для фармакологической коррекции атерогенных ДЛП, что и предполагает их дальнейшее изучение в экспериментальных и клинических условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 41-43.
2. Антонов М.П., Тофило А.П., Богданова К.Н. Метод определения количества и состава пре-бета и бета-липопротеидов в сыворотке крови // Депонир. рукопись. – М., 1986. – Деп 11345 ВИНТИ.
3. Биохимические методы исследования в клинике/ под ред. А.А.Покровского. – М.: Медицина, 1969. – С. 292-294, 309-311.
4. Воронов Г.Г. К оценке антиоксидантной активности некоторых лекарственных препаратов синтетического и растительного происхождения // Тезисы научной конференции “Экологическая патология и ее фармакокоррекция” часть 2. – Чита, 1991. – С. 117-118.
5. Воронов Г.Г. Липотропные эффекты липоглютина на модели радиационной транзитрной дислипидотеинемии //

- Вестник ВГМУ, 2002. - Т.1. - № 1. с. 44-47.
6. Воронов Г.Г., Чиркин А.А., Коневалова Н.Ю., Янушевский Д.С. Выявление гиполипидемического и антиоксидантного действия флавоноидного препарата из цветков люпина на модели радиационной транзиторной дислипопротейемии // Вестник фармации, 1998. - № 2-3. - С. 63-66.
 7. Воронов Г.Г., Чиркин А.А. К вопросу фармакологической коррекции атерогенных дислипопротейемий // Труды Могилевского врачебного общества Беларуси (к 130-летию общества). - часть 1. - Могилев, 1993. - С.70-74.
 8. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропильных экстрактов // Лабораторное дело. - 1988. - № 2. - С. 60-64.
 9. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиоксидательной активности плазмы крови// Лабораторное дело. - 1988. - № 5. - С. 59-62.
 10. Перова Н.В. (ред) Современные методы исследования липопротейдов высокой плотности (методические рекомендации). - М.: "Медицина", 1983. - С. 3-7, 21-23.
 11. Чиркин А.А., Конопля Е.Ф., Степаненко Н.И. и др. Роль радиационного фактора в формировании дислипопротейемий в эксперименте и у населения Беларуси. Подход к медикаментозной терапии выявленных типов дислипопротейемий // Сборник научных трудов "Катастрофа на ЧАЭС и оценка состояния здоровья населения Республики Беларусь" - Минск, 1991. - С. 170-186.
 12. Чыркін А.А., Янушэўскі Д.С., Воранау Г.Г. і інш. Дзеянне поліненасычанага фасфатыдылхаліну на паказчыкі ліпідтранспартнай сістэмы сывяраткі крыві апрамяненых пацукоў // Весці Акадэміі Навук Беларусі. - сер.біял.навук. - 1992. - № 3-4. - С. 50-55.
 13. Dobiasova M. Lecitin cholesterol acyltransferase and regulation of endogenous cholesterol transport advances in lipid research, V.20, 107-194. Eds. R. Paoletti and D.Kritschinsky, Academic Press, New York/1983.
 14. Stokke K., Norum K. Determination of lecitin cholesterol acyltransferase in human blood plasma // Scand. J. Clin. Invest. - 1971. - 27. - P. 21-27

Таблица 1.

Содержание липидов в сыворотке крови и величина индекса атерогенности (ИА) животных после 7-дневного применения (с 10 по 17 сутки после однократного гамма-облучения в дозе 1,0 Гр) флакозида, танацехола и пробуккола ($M \pm m$)

Группа животных	ПОКАЗАТЕЛИ				
	ОХС, мм/л	ХС, мм/л			ОТГ, мм/л
		ЛПВП	ЛПОНП	ЛПНП	
Интakтная (21)	2,31±0,41	1,44±0,44	0,60±0,24	0,29±0,17	1,28±0,42
Облучение 1,0 Гр (17 суток спустя) (23)	3,19±0,91*	0,93±0,52*	0,65±0,39	0,91±0,36*	1,41±0,86
+флакозид (9)	3,00±0,69	1,86±0,46**	1,26±0,36**	0,11±0,01**	2,75±0,78**
+танацехол (8)	2,71±0,44	1,23±0,42	0,63±0,16	0,95±0,24	1,38±0,34
+пробуккол (10)	2,88±0,78	1,33±0,15	0,62±0,29	1,05±0,28	1,36±0,64
					1,41±0,63
					1,47±0,22

Примечание: здесь, а также в таблицах 2,3 и 4 значком * обозначена статистически достоверная ($p \leq 0,05$) разница исследуемых показателей облученных животных с интактной группой; ** - животных, получавших препараты, в сравнении с группой крыс, подвергшихся только облучению; [†] или ^{††} – тенденция ($0,1 > p > 0,05$); в скобках обозначено количество животных.

Таблица 2.

Состав основных классов липопротеинов в сыворотке крови животных после 7-дневного применения (с 10 по 17 сутки после однократного гамма-облучения в дозе 1,0 Гр) флакозид, тапацехола и пробуккола (M±m)

Группа животных	ПОКАЗАТЕЛИ						
	ЛПВП, г/л			(ЛПОНП+ЛПНП), г/л			
	Белки	Липиды	БЛК, у.е.	Белки	Липиды	БЛК, у.е.	
Интактная (21)	122,8±30,9	2,52±0,80	42,9±8,86	3,15±1,25	1,05±0,53	2,11±1,23	
Облучение 1,0 Гр (17 суток спустя) (23)	70,2±26,6*	2,40±0,60	30,3±14,9*	6,76±4,49*	1,79±0,85*	3,60±0,33*	
+флакозид (9)	167,6±10,2**	2,46±0,56	69,9±14,0**	2,04±0,80**	1,62±0,33	1,36±0,79**	
+тапацехол (8)	89,6±30,6	2,08±0,28	45,1±19,4	11,0±4,60 ^{тт}	0,31±0,12**	50,9±20,9**	
+пробуккол (10)	154,0±21,2**	1,42±0,59**	121,3±42,7**	7,30±1,99	3,91±0,63**	1,69±0,46**	

Таблица 3.

Показатели системы эстерификации холестерина в сыворотке крови животных после 7-дневного применения (с 10 по 17 сутки после однократного гамма-облучения в дозе 1,0 Гр) флакозид, танацехола и пробукола ($M \pm m$)

Группа животных	ПОКАЗАТЕЛИ			
	СХС, мм/л	ЭСХС, мм/л	ЛХАТ	
			Фракционная, %	Молярная, мм/л·ч
<i>Интактная</i> (21)	0,85±0,16	1,56±0,24	8,86±5,08	57,3±21,9
Облучение 1,0 Гр (17 суток спустя) (23)	1,14±0,20*	2,21±0,89*	2,79±1,85*	24,6±15,4*
+флакозид (9)	0,90±0,22**	2,09±0,70	5,61±2,72**	50,8±35,2**
+танацехол (8)	1,01±0,12 ^т	1,72±0,52	12,0±5,96**	117,0±56,7**
+пробукол (10)	0,87±0,19**	2,07±0,78	0,30±0,13**	2,50±0,77**

Таблица 4.

Показатели ПОЛ и АОА сыворотки крови животных после 7-дневного применения (с 10 по 17 сутки после однократного гамма-облучения в дозе 1,0 Гр) флакозида, танацехола и пробукола ($M \pm m$)

Группа животных	ПОКАЗАТЕЛИ		
	ДК, мкМ/мг липида	МДА, мкМ/л	% накопления МДА в СЖЛ
<i>Интakтная</i> (6)	2,53±0,02	8,99±0,64	67,1±3,52
Облучение 1,0 Гр (17 суток спустя) (10)			
+флакозид (9)	8,14±0,87*	26,13±2,96*	182,7±18,7*
+танацехол (8)	2,83±0,43**	8,96±0,34**	39,8±1,59**
+пробукол (10)	3,23±0,37**	35,2±1,89**	61,1±2,62**
	7,10±0,36	30,5±0,66	83,3±2,31**